

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. v. Uexküll

Fluorimetrische Bestimmung
von Adrenalin und Noradrenalin im Urin.
Befunde bei Gesunden und essentiellen Hypertonikern
unter Kochsalzentzug und Angiotensin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

vorgelegt von
Gerhard Müller
aus Dillenburg/Hessen

Gießen 1966

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. v. Uexküll

Fluorimetrische Bestimmung
von Adrenalin und Noradrenalin im Urin.
Befunde bei Gesunden und essentiellen Hypertonikern
unter Kochsalzentzug und Angiotensin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

vorgelegt von
Gerhard Müller
aus Dillenburg/Hessen

Gießen 1966

Dekan : Prof. Dr. H.-D. Cremer

Referent : Prof. Dr. S. Bettge

Correferent : Prof. Dr. Hj. Staudinger

Tag der mündlichen Prüfung : 22. Februar 1967

Inhaltsverzeichnis

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODISCHER TEIL	
Erforderliche Substanzen	4
Arbeitsweise	5
Ergebnisse und Diskussion	11
Zusammenfassung	23
KLINISCHER TEIL	
Die Katecholaminausscheidung bei Versuchspersonen	
Vorbemerkungen	26
Ergebnisse	28
Diskussion	42
ZUSAMMENFASSUNG	50
LITERATUR	52

EINLEITUNG

Die Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin, wegen ihrer Brenzkatechinstruktur und der Amingruppe auch "Katecholamine" genannt, gehört zu den schwierigsten Analysen im klinisch-chemischen Labor (43). Beweisend dafür sind u.a. die Vielzahl der angegebenen Methoden und immer neue Modifikationen, weil die Ergebnisse nur ungenügend reproduzierbar sind (50). Während man zum quantitativen Nachweis der Harnkatecholamine zunächst biologische Methoden benutzte (35), werden heute chemische Verfahren bevorzugt. Im wesentlichen stehen dafür 2 Methoden zur Verfügung: 1. Die Kondensationsmethode nach WEIL-MALHERBE und BONE (58). Sie beruht auf der Bildung fluoreszierender Kondensationsprodukte der Katecholamine mit Äthylendiamin. 2. Die Trihydroxyindolmethode (14, 18, 45), die eine höhere Spezifität für Adrenalin und Noradrenalin haben soll (18, 28). Bei der THI-Methode werden Adrenalin und Noradrenalin oxydiert und durch nachfolgenden Alkalizusatz in die fluoreszierenden Trihydroxyindole (Lutine) überführt, deren Fluoreszenz durch Ascorbinsäure stabilisiert wird. Die Extraktion der Katecholamine aus dem Urin wird teils durch Adsorption an Aluminiumoxyd (24), teils mit Hilfe von Ionenaustauschern erreicht (10). Zur Differenzierung wird die unterschiedliche pH-abhängige Oxydations-

empfindlichkeit von Adrenalin und Noradrenalin benutzt (18), von anderen Untersuchern die verschiedenen Aktivations- und Fluoreszenzspektren (2, 9, 49).

Die Fluoreszenz anderer Katecholamine ist ganz unbedeutend. Dopamin hat statt der erforderlichen drei nur zwei OH-Gruppen. Isopropylnoradrenalin kommt nur in Spuren vor (22, 53).

Die klinische Anwendung der Bestimmung der Katecholaminausscheidung dient heute in erster Linie der Phäochromozytomdiagnostik. Ihre Bedeutung für die essentielle Hypertonie ist noch umstritten (3, 25).

Um die Pathogenese der essentiellen Hypertonie aufzuklären, muß man die Faktoren studieren, durch deren Zusammenspiel die Regulation des Blutdrucks zustande kommt. Eine wahrscheinlich zentrale Stellung innerhalb dieser Faktoren nimmt der Kontraktionszustand des Gefäßes ein, für den u. a. die Freisetzung bzw. Ausscheidung von pressorischen Aminen ein Indikator sein kann.

In der vorliegenden Arbeit wird im methodischen Teil ein Verfahren in Anlehnung an die Methode von v. EULER u. FLODING (18) beschrieben unter Berücksichtigung einiger sich als vorteilhaft erweisender Modifikationen von anderen Untersuchern (10, 22, 43, 53) und eigenen Beobachtungen. Wir beschränkten uns dabei auf die Erfassung der direkt bestimmbaren, freien Katecholamine (ohne Hydrolyse).

In einem klinischen Teil der Arbeit wird die Katecholaminausscheidung bei normotonen und hypertonen Versuchspersonen untersucht und das Verhalten der Katecholamine unter bestimmten Versuchsbedingungen. In unseren Untersuchungen soll geprüft werden:

1. Wie ändert sich die Katecholaminausscheidung nach NaCl-Entzug?
2. Wie verhalten sich die Katecholamine unter einem pressorischen Reiz?
3. Bestehen dabei Unterschiede zwischen Normotonikern und essentiellen Hypertonicern?

METHODISCHER TEIL

E r f o r d e r l i c h e S u b s t a n z e n

Geräte:

pH-Meter; Magnetrührer; Filternutsche; Zentrifuge; Spektralphotometer mit Fluoreszenzansatz, z. B. "Zeiss" PMQ II; Stoppuhr.

Reagentien:

Nur aqua bidest verwenden!

1. Schwefelsäure p. a., konz.
2. Aluminiumoxyd sauer z. Chromatographie
Aktivitätsstufe I (M. Wöelm, Eschwege)
3. 0,2n Titriplex III : 37,2g/500ml H₂O (in Hitze lösen)
4. 5n Natronlauge: 500 ml (Titrisol)
5. 0,5n Natronlauge: 50ml 5n NaOH / 500 ml H₂O
6. 2n Essigsäure: 57,6 ml Eisessig 96%ig/ 500 ml H₂O
7. 0,2n Essigsäure: 5,8 ml 96%ige Essigsäure/ 500 ml H₂O
8. 2n Na-Azetatlösung: 82g Na-Azetat "wasserfrei"/500 ml H₂O
9. Azetatpuffer pH 6,5: 200 ml 2n Na-Azetat + 3ml
2n Essigsäure mit pH-Meter einstellen
10. Azetatpuffer pH 3,5: 200 ml 2n Essigsäure + 16ml
2n Na-Azetat mit pH-Meter einstellen
11. 0,5%ige Zinksulfatlösung: 0,5g ZnSO₄ / 100ml H₂O
12. 0,25%ige Kaliumferricyanid-Lösung: 0,05g Kaliumferri-
cyanid/20ml H₂O (täglich frisch ansetzen)
13. Ascorbinsäure-NaOH-Gemisch (Stopplösung)
20 mg Ascorbinsäure + 10 ml 5n NaOH (unmittelbar vor
Gebrauch mischen)
14. Adrenalin-Noradrenalin Stammlösung (1ml=10 μ A+NA)
(unmittelbar vor Gebrauch mischen)
0,5ml Suprarenin + 0,5 ml Arterenol (Ampulle 1:1000
"Hoechst") auf 100 ml 0,03nHCl.
15. Adrenalin-Noradrenalin-Eichlösung (0,2ml=0,02 μ Adrenalin
+ 0,02 μ Noradrenalin)
0,2 ml der Adrenalin-Noradrenalin Stammlösung/10ml H₂O

A r b e i t s w e i s e

Harnsammeln: Der 24-Std.-Harn wird gesammelt und gemessen. In das leere Sammelgefäß wird vorher konzentrierte Schwefelsäure gegeben, etwa 4 - 5 ml auf 1000 ml Urin. Dadurch wird der Urin auf pH 2 - 1,5 angesäuert und weitgehend vor Oxydation geschützt. Wenn nur die freien Katecholamine bestimmt werden sollen, ist es zweckmäßig, das Sammelgefäß in einem nicht zu warmen Raum aufzustellen, um eine Hydrolyse zu vermeiden.

Adsorption: Von der Tagesmenge werden 25 ml Urin in ein Becherglas gefüllt und mit 25 ml H₂O verdünnt, anschließend mit 5 ml 0,2 n Titriplex III versetzt. Dann gibt man 2,0 g Aluminiumoxyd hinzu und bringt nach Einlegen eines Rührstäbchens das Becherglas auf einen Magnetrührer. Es ist darauf zu achten, daß alles Aluminiumoxyd vom Boden aufgewirbelt wird, um eine vollständige Adsorption zu erreichen. Unter Kontrolle eines pH-Meters wird bis pH 5 - 6 langsam mit 5 n NaOH titriert, dann tropfenweise mit 0,5 n NaOH bis pH 8,5. Bei diesem pH-Wert läßt man 5 Minuten rühren, nötigenfalls muß der pH-Wert korrigiert werden.

Elution: Anschließend wird die Aufschwemmung sofort auf eine Filternutsche mit eingelegtem Filterpapier (Schleicher & Schüll Nr.589 Blauband) gegossen und gleichzeitig

mittels Wasserstrahl scharf abgesaugt. Der Rückstand im Becherglas wird sorgfältig mit etwa 10 ml H_2O ausgespült. Nach Absaugen der letzten Tropfen wird das Filtrat verworfen, die Filternutsche auf ein bei 10 ml graduiertes Zentrifugenröhrchen gesetzt und auf das Aluminiumoxyd 3 ml 0,2 n Essigsäure pipettiert. Um eine möglichst vollständige Elution zu erreichen, läßt man die Essigsäure etwa 1/2 Minute einwirken, während man mit einem Glasstab das Aluminiumoxyd leicht aufrührt oder durch leichtes Schütteln des Filters eine gute Durchmischung erreicht. Anschließend wird langsam abgesaugt. Dieser Elutionsvorgang wiederholt sich noch zweimal mit je 3 ml der 0,2 n Essigsäure, wobei jedesmal auf eine gute Durchmischung zwischen Eluierflüssigkeit und Aluminiumoxyd zu achten ist. Die letzten Tropfen werden scharf abgesaugt und das Eluat auf 10 ml H_2O aufgefüllt. Um eine Trübung durch mitfiltriertes Aluminiumoxyd zu beseitigen, wird kurz zentrifugiert und anschließend das Eluat bis zur Messung im Kühltank aufbewahrt.

2. Fluorimetrische Bestimmung

Lutinbildung: Die Katecholamine werden durch Ferricyanid zu Adrenochrom bzw. Noradrenochrom oxydiert, anschließend durch Zusatz von stark alkalischer Lösung infolge Tautomerisation in die fluoreszierenden Lutine übergeführt. Ascorbinsäure wirkt dabei als Stabilisator (14, 45).

Es wird ein sogenannter innerer Katecholaminstandard benutzt. Die Reaktion erfolgt in 5 graduierten Meßzylindern nach einem Schema, das in Tab. 1 aufgezeichnet ist.

Fluorimetrische Messung: Die Fluoreszenzmessung wird hier für das "Zeiss"-Spektralphotometer PMQ II mit Fluoreszenzansatz ZFM 4 beschrieben. Es wird die Aufstellung A benutzt. Die Anregung erfolgt mit der Hg-Linie 405 m μ (Monochromatfilter M 405), aus dem Fluoreszenzspektrum wird mit einem Monochromator die Wellenlänge 520 m μ isoliert. Als Fluoreszenzstandard dient eine 0,5 mg%ige Chininsulfatlösung (gelöst in 0,1 n Schwefelsäure), deren spektrale Energieverteilung etwa der der nachzuweisenden Katecholamine entspricht. Die dafür notwendige Verstärkung ist 10/1/II. Die Ablesung erfolgt auf der linearen Durchlässigkeitsskala und wird in Skalenteilen angegeben. Durch Regulierung der Photometerverstärkung bzw. Spaltbreite wird der Chininsulfatstandard so eingestellt, daß die Fluoreszenz der nachzuweisenden Substanz in dem Bereich zwischen 10-60 Skalenteilen liegt. Ist die Fluoreszenz stärker, wird eine entsprechend konzentriertere Chininsulfatlösung gewählt. Die Proben werden in Quarzküvetten mit poliertem Boden gefüllt und jeweils gegen den Bezugsstandard abgelesen. Das hat möglichst schnell zu erfolgen, da die Fluoreszenzintensität schon nach 4-5 Minuten langsam nachläßt.

Tab. 1: Schema für die Lutinbildung

	1	2	3	4	5
	Eluat pH 6,5	Eluat pH 6,5 + Eich- lösung	Eluat pH 3,5	Eluat pH 3,5 + Eich- lösung	Extrakt- leerwert
	E 6,5	E 6,5St	E 3,5	E 3,5St	ELW
Azetatpuffer pH 6,5	1 ml	1 ml	-	-	-
Azetatpuffer pH 3,5	-	-	1 ml	1 ml	1 ml
Zinksulfat 0,5 %ig	-	-	0,1 ml	0,1 ml	-
Eluat	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	-
A+NA-Eich- lösung	-	0,2 ml	-	0,2 ml	-
Stoppuhr ! Kalium- ferricyanid	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,2 ml Eluat !
	Schütteln 2 Min.warten !		 	Schütteln 3 Min. warten !	
Ascorbin- säure-NaOH	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
	Schütteln und auf 5 ml mit Aqua bidest. auffüllen				

Nach Auffüllen mit H₂O wird nochmals vorsichtig gemischt und unmittelbar danach mit der fluorimetrischen Messung begonnen. Diese soll innerhalb von 10 Minuten erfolgt sein (22).

Berechnung: Die Berechnung der Konzentrationen beider Katecholamine erfolgt nach einer von LAUBER (43) angegebenen Gleichung:

$$N = \frac{E_{6,5} - E_{3,5}}{(E_{6,5St} - E_{3,5St}) - (E_{6,5} - E_{3,5})} \times KN$$

$$A = \frac{E_{3,5} - ELW - 0,1 (E_{6,5} - E_{3,5})}{E_{3,5St} - ELW - 0,1 (E_{6,5St} - E_{3,5St}) - [E_{3,5} - ELW - 0,1 (E_{6,5} - E_{3,5})]} \times KA$$

E 6,5 : Fluoreszenz bei pH 6,5

E 3,5 : Fluoreszenz bei pH 3,5

E 6,5St : Eluat + Standard, Fluoreszenz bei pH 6,5

E 3,5St : Eluat + Standard, Fluoreszenz bei pH 3,5

ELW : Extraktleerwert

KN bzw. KA : Noradrenalin-bzw. Adrenalinmenge des Standards

Die erhaltene Noradrenalin-bzw. Adrenalinmenge bezieht sich dabei auf 0,2 ml Eluat. Die Tagesausscheidung ergibt sich nach folgender Formel:

$$\begin{array}{l} \text{Noradrenalinmenge} \\ \text{im 24 Std. Urin} \end{array} = \frac{N^* \times 2 \times 24 \text{ Std.-Harnvolumen in ml.}}{\quad}$$

N* = Noradrenalinmenge in 0,2 ml
Eluat, für A entsprechend.

Beispiel

Urin Tagesmenge 725 ml

Als Katecholaminstandard wurden 0,02γ Adrenalin und 0,02γ Noradrenalin zugesetzt.

Ablesung am Photometer:

Chininsulfatstandard auf 100 Skt eingestellt

Extraktleerwert	6 Skt
Eluat pH 6,5	22,4 Skt
Eluat pH 3,5	11 Skt
Eluat + Standard pH 6,5	42,4 Skt
Eluat + Standard pH 3,5	23 Skt

$$\text{Noradrenalin} = \frac{(22,4-11) \times 0,02}{(42,4-23) - (22,4-11)} = 0,0285\gamma / 0,2 \text{ ml Eluat}$$

$$\text{pro ml Urin: } 0,0285 \times 2 = 0,057\gamma$$

$$\text{pro 24Std.-Urin: } 0,057 \times 725 = \underline{\underline{41,4\gamma}}$$

$$\text{Adrenalin} = \frac{11-6-0,1(22,4-11) \times 0,02}{23-6-0,1(42,4-23) - [11-6-0,1(22,4-11)]} =$$

$$= 0,0069\gamma / 0,2 \text{ ml Eluat}$$

$$\text{pro ml Urin: } 0,0069 \times 2 = 0,0138\gamma$$

$$\text{pro 24Std.-Urin: } 0,0138 \times 725 = \underline{\underline{10\gamma}}$$

$$\text{Wird der Quotient } \frac{E_{6,5} - E_{3,5}}{(E_{6,5\text{Std}} - E_{3,5\text{Std}}) - (E_{6,5} - E_{3,5})} \text{ größer als 3,}$$

was nur bei pathologischem oder hochkonzentriertem Urin der Fall ist, dann sollte nach dem Vorschlag von LAUBER (43) der Analysengang mit einem höheren Katecholaminstandard wiederholt werden, weil sonst der relative Fluoreszenzunterschied zwischen Standard und Analyse zu klein ist.

Ergebnisse und Diskussion der Methode

1. Fluoreszenzspektren: Bei der "multiple filter technique" werden Adrenalin und Noradrenalin auf Grund unterschiedlicher Fluoreszenz- u. Aktivationspektren bestimmt (49, 9, 2). Im Gegensatz dazu erfolgt bei der "2 pH-Methode" die Fluoreszenzmessung bei ein und demselben Primärlicht (45, 18). Dabei ist eine möglichst maximale und gleiche Fluoreszenzintensität beider Substanzen wünschenswert. Das wird erreicht, indem man aus dem Spektrum der anregenden und Fluoreszenzstrahlung eine geeignete Wellenlängenkombination herausfiltert oder mittels Monochromator isoliert. In der Literatur finden sich z.B. folgende Kombinationen: LUND (45) Primärfilter 365 $m\mu$, Sekundärfilter 500-800 $m\mu$; v.EULER u. FLODING (18) 436/529 $m\mu$; KNAUFF u. VERBEEK (39) 405/500-3000 $m\mu$. Durch Testversuche mit eingewogenen Mengen von Adrenalin und Noradrenalin fanden wir als günstige Kombination die anregende Wellenlänge von 405 $m\mu$ (Monochromatfilter) und die Messung der Fluoreszenz bei 520 $m\mu$ (Monochromator). Nach JACOBS u. Mitarb. soll die Wellenlänge von 405 $m\mu$ wesentlich spezifischer sein als eine von 365 $m\mu$ (37). In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von COHEN u. GOLDENBERG (9) fanden wir die maximale Fluoreszenz für Adrenolutin bei 520-530 $m\mu$, für Noradrenolutin bei 510-515 $m\mu$. Im Gegensatz zu

den meisten anderen Untersuchern war jedoch die Fluoreszenzintensität für Noradrenolutin eher etwas größer als für Adrenolutin (siehe Abb. 1). Als Mittelwert einigten wir uns auf die Wellenlänge $520\text{ m}\mu$ zur Messung der Fluoreszenz.

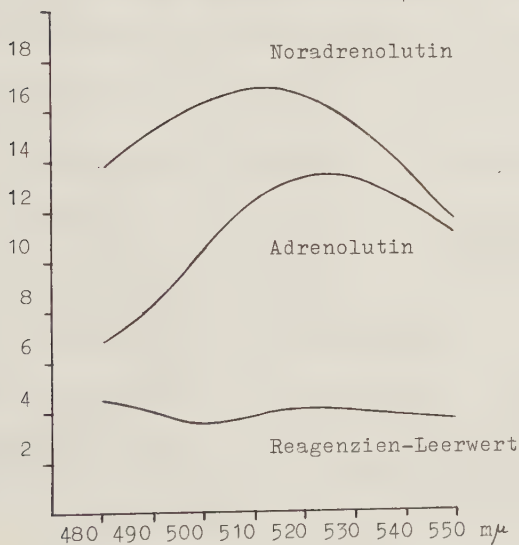
Bei der Aufnahme der Fluoreszenzspektren gingen wir folgendermaßen vor: Anregende Wellenlänge $405\text{ m}\mu$. Der Chinsulfatstandard wurde bei $520\text{ m}\mu$ auf 100 Skt. eingestellt und dann durch Verstellen der Wellenlängen die Fluoreszenzspektren von Adrenolutin, Noradrenolutin und dem Reagentienleerwert aufgenommen. Dabei wurden für Adrenalin und Noradrenalin getrennte Eichlösungen angesetzt mit je $0,02\gamma$ Substanz/ $0,2\text{ ml}$ (Abb. 1).

Abb. 1: Beispiel eines Fluoreszenzspektrums

Anregende Wellenlänge 405 m μ
A = Adrenolutin (0,02 g/0,2 ml)
N = Noradrenolutin (0,02 g/0,2 ml)
L = Leerwert
Wellenlängen des Spektrums in m μ
Skt = Skalenteile des Photometers

m μ	Skt		
	L	A	N
490	4,6	6,8	13,8
485		7,6	14,6
490	4,0	8,4	15,3
495		9,4	15,8
500	3,6	10,5	16,3
505		11,6	16,6
510	3,8	12,4	16,8
515	4,0	13,0	16,8
520	4,0	13,3	16,5
525	4,0	13,4	16,0
530	4,0	13,2	15,3
535		12,8	14,5
540	3,8	12,4	13,6
545		11,7	12,6
550	3,6	11,0	11,6

Skt Max. für N: 510-515 m μ
Max. für A: 520-530 m μ



2. Freie- und Gesamtkatecholamine: Auf Grund der Untersuchungen von EULER u. HELLNER (19) bzw. von EULER und Mitarb. (21) unterscheidet man zwischen "free" und "total" Katecholaminen im Urin. Die freien Katecholamine sind der nicht an Schwefelsäure und Glucuronsäure gebundene Anteil, die Gesamtkatecholamine bestehen aus den freien und den in gebundener Form vorliegenden Katecholaminen. Die letzteren werden durch saure Hydrolyse im kochenden Wasserbad freigesetzt (pH 0 - 1; Dauer etwa 10 Minuten). Dadurch erhöht sich die zu erwartende Menge um das 1,5 - 3 fache (21). Von den meisten Untersuchern werden die Gesamtkatecholamine bestimmt, von einigen z. B. KNAUFF u. VERBEEK (39) nur der freie Anteil gemessen. Die Bestimmung der Gesamtkatecholamine bereitete uns erhebliche Schwierigkeiten. Vergleichende Bestimmungen von freien und Gesamtkatecholaminen in demselben Urin ergaben nach Hydrolyse zum Teil die erwarteten 2 - 4 fach höheren Mengen, in anderen Fällen traten viel zu hohe Werte auf, besonders für die Proben bei pH 6,5. Das wiederum führt zu fälschlich erhöhten Noradrenalinwerten. Verantwortlich dafür ist sehr wahrscheinlich der Farbstoffgehalt des Urins, der durch Hydrolyse noch viel intensiver wird. Für die nicht gebundenen Katecholamine erhielten wir wesentlich konstantere Ergebnisse. Da es bei unserer Fragestellung in erster Linie um den Vergleich der Katecholaminausscheidung unter verschiedenen Versuchsbedingungen ging, beschränkten wir uns auf die Erfassung der freien Katecholamine.

3. Filtration - Elution: Zur Filtration wurden von uns zunächst Glasfritten benutzt, die sich aber sehr schnell verstopften und nur schwer reinigen ließen. Nach dem Vorschlag von LAUBER (43) setzten wir auf die Vakuumnutsche ein Büchner-Filter, in welches 2 passende Papierfilter (Schleicher & Schüll Blauband Nr. 589) eingelegt wurden. Ein passender Glasring ermöglichte ein Festklemmen der Papierfilter und sorgte für einen dichten Abschluß zum Rand hin. Damit waren für alle Proben gleiche Bedingungen geschaffen.

Zur Elution werden meist verdünnte mineralische oder organische Säuren verwendet. Nach v.EULER u. LISHAJKO (22) scheint Schwefelsäure mehr störende Substanzen zu eluieren als Essigsäure. Wir benutzten 0,2 n Essigsäure. Von den meisten Autoren wird die Elution in mehreren Etappen vorgenommen. v. EULER u. ORWEN stellten fest, daß nach einmaliger Elution von 5 ml die Rückgewinnungsraten nur etwa 50 % betragen. Sie empfehlen 2 x 5 (2 x 4) ml Eluierflüssigkeit und dazwischen ein kurzes Aufrühren des Aluminiumoxyds (25). LAUBER eluiert in 3 Portionen und bewegt jedesmal die Vakuumnutsche vor dem Absaugen (43).

Wir verglichen beide Möglichkeiten, indem wir jeweils von einem Urin 2 Portionen aufbereiteten und jeder die gleiche Menge Adrenalin und Noradrenalin zusetzten. Dann eluierten wir die eine Probe mit 2x4 ml 0,2 n Essigsäure, die andere mit 3 x 3 ml. Vor jedem Absaugen wurde - im ersten Fall 2 mal, im anderen 3 mal - der Fil-

terkuchen mit einem Glasstab aufgerührt und durch Schwenken der Filternutsche eine zusätzliche Durchmischung von Eluierflüssigkeit und Aluminiumoxyd erreicht. Anhand der Rückgewinnungsraten konnte gezeigt werden, daß ein 3-maliges Eluieren eine vollständigere Elution bewirkt, besonders bei größeren Mengen an Katecholaminen (Tab.2).

Tab. 2 : Rückgewinnungsraten in % der zugesetzten Menge nach Elution mit 2 x 4 ml oder 3 x 3 ml 0,2 n Essigsäure

A = Adrenalin
NA = Noradrenalin

Zugesetzte Menge in g/25 ml Urin		0,2 n Essigsäure			
A	NA	2 x 4 ml		3 x 3 ml	
1,0	1,0	81 %	85 %	81 %	88 %
1,5	1,5	76	83	94	85
2,0	2,0	63	67	75	73
3,0	3,0	60	54	72	75
4,0	4,0	71	68	86	82
5,0	5,0	51	57	91	83

4. Katecholaminstandard: Um eine unbekannte Menge an Katecholaminen zu berechnen, muß man von einer bekannten Menge ausgehen. Hierbei werden recht unterschiedliche Wege beschritten. KNAUFF u. VERBEEK (39) gehen bei der Bestimmung unbekannter Lösungen von einer Eichkurve aus verschiedenen Adrenolutin- und Noradrenolutinkonzentrationen aus. Von EULER u. FLODING (18) bzw. SCHAEFDRYVER (53) führen jedesmal einen Katecholaminstandard in wässe-

riger Lösung mit. BERTLER, CARLSON u. ROSENGREEN (2) fügen zusätzlich dem Eluat eine bekannte Menge an Katecholaminen bei ("internal standard") um festzustellen, ob das Eluat die Fluoreszenz der Katecholamine beeinträchtigt (Quenching-Effekt). LAUBER (43) geht nur von diesem sogenannten "inneren Standard" aus, setzt ihn aber schon vor der Extraktion der Urinprobe zu, um auch die unterschiedlichen Adsorptions- und Elutionsverluste zu berücksichtigen.

Auch wir konnten in vergleichenden Untersuchungen feststellen, daß das Eluat in ganz unterschiedlichem Ausmaß die Fluoreszenz der zugesetzten Katecholamine drückt; zum Teil betrug sie nur die Hälfte der Fluoreszenz des Vergleichsstandards in wässriger Lösung. Würde man in diesem Fall bei der Bestimmung der unbekannten Menge von dem "wässrigen Katecholaminstandard" ausgehen, gäbe das viel zu niedrige Werte. Deshalb gingen wir bei unseren Berechnungen ebenfalls von einem "inneren Katecholaminstandard" aus: Vor der Oxydation wird dem Eluat eine bekannte Menge der Eichlösung ($0,02 \gamma$ Adrenalin + $0,02 \gamma$ Noradrenalin) zugesetzt. Die Fluoreszenz von Eluat plus Standard minus der Fluoreszenz des Eluats ist dann der Eichwert für den Standard, bzw. davon ausgehend für den Katecholamingehalt der Extraktproben.

5. Extraktleerwert: An den Extraktleerwert ("Leerwert des Urins", "fading", "blank") ist die Forderung zu stellen, daß er nur die Blindfluoreszenz der mitisolierten Begleitstoffe, jedoch keine Fluoreszenz der oxydierten Katecholamine wiedergibt. Dafür gibt es prinzipiell 2 Möglichkeiten. Die meisten Untersucher basieren in dieser Hinsicht auf der Methode von LUND (45) und setzen dem Eluat nach Oxydation eine starke Lauge ohne Ascorbinsäure bzw. die Ascorbinsäure später zu. Dadurch sind die gebildeten Lutine unstabil, werden zerstört und sind damit nicht mehr fluoreszierend, nach Kalimferri-cyanid schneller als nach Mangandioxyd (18). Die andere Möglichkeit ist, ohne Oxydation dem Eluat Ascorbinsäure in stark alkalischer Lösung zuzusetzen (22, 53). Da keine Oxydation vorausgegangen, können keine fluoreszierenden Lutine entstehen. SCHAEPPDRYVER schreibt, daß diese Methode als Extraktleerwert vorzuziehen sei, da im anderen Fall eine zu geringe Blindfluoreszenz entstehen würde (53). BERTLER, CARLSSON u. ROSENGREEN berichten für beide Leerwerte praktisch gleiche Werte (2).

Wir haben beide Möglichkeiten des Extraktleerwerts verglichen. Dazu wurden zunächst die primär vorhandenen Katecholamine zerstört (siehe unten) und jeweils eine Urinprobe geteilt. Probe A wurde eine bestimmte Adrenalinmenge zugesetzt, Probe B wurde ohne Zusatz aufbereitet. Wir verglichen dann die Fluoreszenz der beiden Ex-

traktleerwerte von Probe A mit der Eigenfluoreszenz des Eluats von Probe B bei pH 3,5. Außerdem ermittelten wir mit beiden Leerwerten von Probe A die Rückgewinnungsraten an Adrenalin. Beide Untersuchungen zeigten, daß die Bildung des Leerwertes ohne Ascorbinsäure eine zu geringe Blindfluoreszenz zur Folge hat (Tab. 3a, 3b).

Für die gemeinsame Bestimmung von Noradrenalin und Adrenalin ist es ohne Bedeutung, ob der Leerwert bei pH 6,5 oder pH 3,5 ermittelt wird. Bei der getrennten Erfassung von Adrenalin bestimmt man den Leerwert zweckmäßigerweise bei pH 3,5, da bei diesem pH kaum Fluoreszenzprodukte aus Noradrenalin entstehen (39).

Tab. 3 a: Vergleich verschiedener Extraktleerwerte
mit der Eigenfluoreszenz des Eluats

ElW 1: mit Ascorbinsäure + Natronlauge,
ohne Kaliumferricyanid
ElW 2: mit Kaliumferricyanid + Natronlauge
ohne Ascorbinsäure

Probe A: Adrenalin zugesetzt
Probe B: kein Adrenalinzusatz
Zuvor wurden in beiden Urinproben die
primär vorhandenen Katecholamine zerstört.

Urinprobe A			Urinprobe B	
Nr.	ElW 1	ElW 2	ElW 1	pH 3,5
1	14,0	3,2		15,5
2	16,0	8,0		15,0
3	9,5	4,0		12,0
4	6,8	2,7	7,6	7,9
5	6,3	2,8	6,1	7,0

Tab. 3 b: Rückgewinnungsraten in % der zugesetzten
Mengen bei verschiedenen Extraktleerwerten

Adrenalin (Suprarenin) g/25 ml Urin	Rückgewinnung	
	bei ElW 1	bei ElW 2
0,5	95 %	130 %
1,0	85 %	105 %
1,0	71 %	110 %
1,0	93 %	116 %
1,5	73 %	97 %

6. Rückgewinnungsraten: Die beschriebene Methode haben wir anhand einer Reihe von Rückgewinnungsversuchen getestet. Dazu ist es notwendig, zunächst die primär im Urin vorhandenen Katecholamine zu zerstören. Wir erreichten das mit einem Verfahren von CRAWFORD u. LAW (10): Eine geeignete Urinmenge wurde mit 5 n Natronlauge auf pH 10 eingestellt und 20 Min. lang gekocht. Nach Abkühlen wurde der Urin mit 10 n H₂SO₄ auf pH 1,5 -2 gebracht und eine bestimmte Menge Adrenalin (Suprarenin) und Noradrenalin (Arterenol) zugesetzt. Die Katecholamine wurden dem gesamten Aufbereitungsverfahren unterworfen und die errechneten Mengen in Prozent der zugesetzten ausgedrückt. In guter Übereinstimmung mit anderen Untersuchern (siehe unten) betrug die Rückgewinnung im Mittel (Mittelwert und Standardabweichung s*) für Adrenalin 80,7 ± 9% und für Noradrenalin 80,0 ± 7% (Tab.4).

EULER u. ORWEN (24): Adrenalin 85%, Noradrenalin 78%;

EULER u. LISHAJKO (22): 70 - 100%;

SCHAEFDRYVER (53): Adrenalin 89,5%, Noradrenalin 77%;

KNAUFF u. VERBEEK (39): Adrenalin 91%, Noradrenalin 84%;

ATKINSON u. WYNNE (1): Adrenalin 82 ± 5%, Noradrenalin 83 ± 6%.

*Standardabweichung s = Wurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Abweichungen.

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x-M)^2}{N}}$$

Tabelle 4: Rückgewinnungsraten im Urin
von Adrenalin und Noradrenalin
in % der zugesetzten Mengen

Zugesetzte Mengen in γ /25 ml Urin	Adrenalin (Suprarenin)						
	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0
	95	85	73	71	76	72	91
	97	71	88	73	72	96	72
Rückgewinnung	93	81	94	75	74	71	72
in %		81	76	81		86	76
		81	73				
		93					

Mittelwert und	80,7 $\pm$ 9 %
Standardabweichung	

Zugesetzte Mengen in γ /25 ml Urin	Noradrenalin (Arterenol)						
	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0
	75	78	84	75	75	78	83
	98	72	79	80	75	90	74
Rückgewinnung	95	85	83	73	75	68	80
in %		88	85	75		82	77
		85	75				
		90					

Mittelwert und	80,0 $\pm$ 7 %
Standardabweichung	

Wir konnten feststellen, daß die Rückgewinnungsraten stark abhängig sind von einer sorgfältigen Adsorption und Elution, ferner von der Zeit, innerhalb der das Eluat und die Stammlösung bzw. Eichlösung verarbeitet werden.

Die Katecholamine sind sehr instabil. Wenn sich durch längeres Stehen die Verluste in den Standardlösungen stärker auswirkten als im Eluat, ergab das zu hohe Werte (Rückgewinnungsraten über 100%). Umgekehrt würde man zu niedrige Werte erhalten, wenn das Eluat im Vergleich zum Katecholaminstandard zu lange gestanden hat. Es ist daher unbedingt ratsam, das Eluat nicht länger als 1 Stunde aufzubewahren und die Stamm- bzw. Eichlösung unmittelbar vor Gebrauch herzustellen.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die Urinkatecholamine werden nach den Prinzipien der Trihydroxyindolmethode bestimmt:

Der 24-Std.-Urin wird bei einem pH unter 3,0 gesammelt und eine Urinprobe von 25 ml verarbeitet. Die Adsorption der Katecholamine erfolgt an 2,0 g Aluminiumoxyd. Unter Aufrühren auf einem Magnetrührer wird unter Kontrolle eines pH-Meters mit 5,0 bzw. 0,5 n NaOH bis zu einem pH-Wert von 8,5 titriert. Die Aufschwemmung wird filtriert. Aus dem Rückstand werden die Katecholamine

mit 0,3 n Essigsäure eluiert.

Die Fluoreszenz der Katecholamine wird erreicht durch Oxydation mit Kaliumferricyanid und Lutinbildung mittels Ascorbinsäure-Natronlauge. Zur Differenzierung von Adrenalin und Noradrenalin werden dabei unterschiedliche pH-Werte von 3,5 und 6,5 benutzt.

Zur Messung der Fluoreszenz wird ein Spektralphotometer mit Fluoreszenzzusatz benutzt. Die Anregung erfolgt mit der Hg-Linie von 405 m μ , aus dem Fluoreszenzspektrum wird die Wellenlänge 520 m μ isoliert. Als Fluoreszenzstandard dient Chininsulfat.

Folgende Modifikationen erweisen sich als vorteilhaft:

1. Die Bestimmung der "freien Katecholamine" (ohne Hydrolyse) ergibt konstantere Ergebnisse.
2. Zur Filtration wird wegen der besseren Reinigung statt der meist üblichen Glasfritte ein Büchner-Filter benutzt. Das eingelegte Filterpapier wird durch einen passenden Glasring festgeklemmt.
3. Durch Eluieren mit 3 x 3 statt 2 x 4 ml Essigsäure wird eine vollständigere Elution erreicht.
4. Es wird ein sogenannten "innerer Katecholaminstandard" benutzt, d. h. eine bekannte Menge Eichlösung wird dem Eluat zugesetzt. Weil das Eluat in ganz unterschiedlichem Ausmaß die Fluoreszenz drückt, erhält man zu nied-

rige Werte, wenn von einem Vergleichsstandard in wässriger Lösung ausgegangen wird.

5. Der Extraktleerwert des Urins wird durch Zugabe von Ascorbinsäure-Natronlauge zum Eluat gewonnen ohne vorausgegangene Oxydation. Die andere Methode, zunächst das Eluat zu oxydieren, um dann die gebildeten Lutine durch Natronlauge zu zerstören, ergibt eine zu niedrige Blindfluoreszenz und entsprechend zu hohe Katecholaminwerte.

6. Die Stamm- bzw. Eichlösungen werden unmittelbar vor Gebrauch angesetzt. Das Eluat soll nicht länger als 1 Stunde bis zur Lutinbildung stehen. Anschließend wird sofort mit der fluorimetrischen Bestimmung begonnen.

KLINISCHER TEIL

Die Katecholaminausscheidung bei Versuchspersonen

V o r b e m e r k u n g e n

Die Bestimmung der Katecholaminausscheidung ist von grosser klinischer Bedeutung, da sie einen Hinweis auf die Aktivität des sympathiko-adrenalen Systems gibt. Es erschwert die Bewertung, daß in die Ausscheidungswerte für Katecholamine nicht nur die im Nebennierenmark, sondern auch die in anderen adrenergisch innervierten Organen freigesetzten Aminmengen eingehen (34). Man muß ferner berücksichtigen, daß nur ein Bruchteil der täglich freigesetzten Mengen in Form des unveränderten pharmakologisch aktiven Wirkstoffes im Harn erscheint. Die überwiegende Menge sind inaktive Abbauprodukte, z.B. Mandelsäurederivate (38). Nach den Untersuchungen von v. EULER u. LUFT steht die Ausscheidung der Katecholamine jedoch in relativ fester Beziehung zu ihrer Produktion, so daß die Bestimmung im Harn in etwa ein Maßstab für die Freisetzung dieser Stoffe sein kann (23).

Exogene und endogene Störfaktoren

Bei der Bestimmung der Katecholaminausscheidung muß man darauf achten, daß nicht durch exogene oder endogene Störfaktoren die gemessenen Werte fälschlich erhöht oder erniedrigt sind. Nach den Untersuchungen von RITZEL u. HUNZINGER (50) entstehen fluoreszierende Hydroxyindole nur, wenn sich zwei OH-Gruppen in p- und m-Stellung am Benzolring befinden und gleichzeitig eine dritte OH-Gruppe am ersten C-Atom der Seitenkette. Deshalb ist vor und während einer Bestimmungsperiode eine Medikation mit solchen Substanzen zu vermeiden (Aludrin, Corbasil usw.), ferner mit allen Substanzen, die die Adrenalin- und Noradrenalinfreisetzung beeinflussen (Reserpin, Chlorpromazin). SCHLOSSMANN u. Mitarb. berichten, daß durch Gabe von α -Methyldopa (Presinol) die Katecholaminwerte excessiv "erhöht" werden und erst 6 - 7 Tage nach Absetzen des Medikaments wieder zu normalen Werten zurückkehren (54).

Bekannt ist die Störfluoreszenz der Vitamin B - Gruppe (12). Nicht auszuschließen ist das Vorhandensein anderer Störsubstanzen, die in einem Red- oder Oxydationszustand fluoreszieren (50).

Es ist weiterhin zu beachten, daß die Katecholaminausscheidung in Abhängigkeit von der körperlichen und psychischen Belastung der Versuchspersonen physiologischen Schwankungen unterliegt (20, 41, 16, 56).

Ferner ist eine Altersabhängigkeit beschrieben worden. Die Exkretion von Adrenalin und Noradrenalin soll mit steigendem Alter zunehmen (60,50).

Nicht zuletzt müssen methodische Schwankungen berücksichtigt werden, die auch bei uns in Doppelbestimmungen Unterschiede bis zu 15 % ergaben. Wir wählten jeweils den Mittelwert aus zwei Bestimmungen.

Für Signifikanzberechnungen unterschiedlicher Mittelwerte wurde der t - Test, bzw. der t - Test im paarweisen Vergleich angewandt.

E r g e b n i s s e

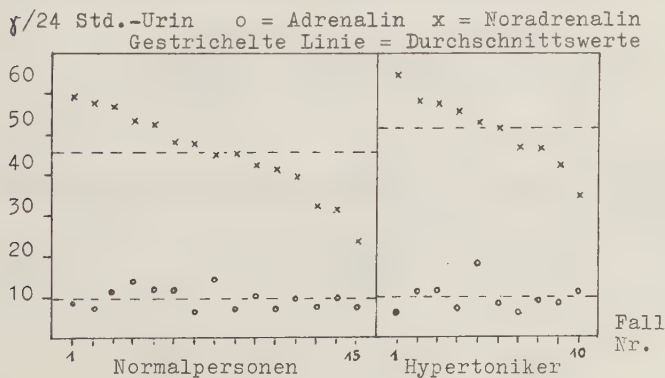
1. Normalwerte bei gesunden Versuchspersonen

Mit der oben beschriebenen Methode haben wir bei 15 gesunden Versuchspersonen im Alter von 15 - 50 Jahren die tägliche Ausscheidung von Adrenalin und Noradrenalin im 24 Std.-Urin gemessen. Die meisten Versuchspersonen hielten überwiegend Bettruhe ein und leisteten nur geringe Muskelarbeit. Es zeigten sich erhebliche interindividuelle Schwankungen. Die von uns ermittelten Normalwerte für Noradrenalin lagen in einer Größenordnung von 20 - 70 γ (Durchschnittswert $45,5 \pm 10 \gamma$), für Adrenalin von 5 - 20 γ (Durchschnittswert $9,9 \pm 2,7 \gamma$) im 24 Std.-Urin (s. Abb. 2).

2. Befunde bei essentiellen Hypertonikern

Im Vergleich zu den Normotonikern interessierte uns die Katecholaminausscheidung bei essentiellen Hypertonikern. Laut Definition der American Heart Association forderten wir bei der Auswahl unserer Hypertoniker systolische Blutdruckwerte von mindestens 140 mm Hg und diastolische Werte von 90 mm Hg und darüber, ferner den Ausschluß einer organischen Ursache der Blutdrucksteigerung. Wir untersuchten 10 stationär aufgenommene Patienten im Alter von 15 - 40 Jahren, die überwiegend Bettruhe einhielten. Die tägliche Ausscheidung von Noradrenalin lag zwischen 30 und 70 γ (Durchschnittswert $51,6 \pm 8,5\gamma$) bei Adrenalinmengen zwischen 5 und 20 γ ($10,1 \pm 1,1\gamma$) im 24 Std.-Urin. Ein statistisch gesicherter Unterschied zu den Normalwerten gesunder Versuchspersonen bestand nicht. Die t-Werte für Adrenalin entsprachen einem $p > 0,2$, für Noradrenalin einem $p > 0,1$.

Abb. 2 : Tägliche Ausscheidung von Adrenalin und Noradrenalin bei 15 Normalpersonen und 10 essentiellen Hypertonikern, angeordnet nach Höhe der Noradrenalinausscheidung



3. Katecholaminausscheidung nach Angiotensin und Kochsalzentzug.

Versuchsbedingungen:

In einer weiteren Versuchsreihe interessierte uns das Verhalten der Katecholamine nach Kochsalzentzug und nach einem pressorischen Reiz. Untersucht wurden 8 Jugendliche im Alter von 16 - 30 Jahren. Bei vier dieser Versuchspersonen handelte es sich um essentielle Hypertoniker, die übrigen vier waren gesunde, normotone Kontrollpersonen (Medizinstudenten). Alle Versuchspersonen wurden 8 Tage stationär aufgenommen und hielten überwiegend Bettruhe ein. Sie bekamen zunächst für 2 Tage Vollkost. Anschließend für weitere 5 Tage eine kochsalzarme Diät nach Kempner ⁺ und zusätzlich 2 x 50 mg Esidrix p.o.. Am 8. Tag erhielten sie wieder normale Kost. Die Blutdruckwerte wurden täglich 3 mal mit der üblichen Methode nach Riva Rocci gemessen. Die Katecholamine haben wir im 24 Std.-Sammelurin am 1., 2., 5., 7. und 8. Versuchstag bestimmt. In dem gleichen Urin wurde der Gehalt an Natrium und Kalium flammenphotometrisch gemessen und auf die pro Tag im Urin ausgeschiedenen Mengen umgerechnet

⁺ Die Kempner-Reisdiät besteht aus ungesalzenem Reis und Obst; 1800 - 2400 Kalorien; 0,15 g Na, 0,2 g Cl, 70 - 80 mÄqu. K, 1 l Wasser.

Am 2. und 8. Tag, also vor und nach NaCl-Entzug, provozierten wir einen pressorischen Reiz in Form einer Infusion von Angiotensin. Wir übernahmen dazu die schon in einer früheren Arbeit von BURKHARDT (8) angegebene Versuchsanordnung:

Verwendet wurde das synthetische Angiotensin^R II, das nachgewiesenermaßen bis zu einer Dosis von 1γ /kg/min. eine der Infusionsmenge proportionale Blutdrucksteigerung bewirkt. (6, 36, 31, 32)

Die Angiotensinmenge dosierten wir entsprechend dem unterschiedlichen Körpergewicht so, daß in 3 verschiedenen Laufgeschwindigkeiten von je 10 Minuten $0,002 \gamma$, dann $0,01 \gamma$ und in den letzten 10 Minuten $0,02 \gamma$ Angiotensin/kg/min. infundiert wurden.

Als Infusionsgerät* diente eine Infusionspumpe, mit der man exakt ein bestimmtes Volumen pro Zeiteinheit infundieren kann. Während der Infusion und 10 Minuten vor und nachher wurde in jeder Minute der Blutdruck gemessen. Wir verwendeten dazu den "Custocor"**, ein Gerät, das bei wählbarem Abstand automatisch Blutdruck und Puls registriert.

In Vorversuchen hatten wir getestet, daß dem Urin zugesetztes Angiotensin oder Esidrix die Bestimmung der Katecholamine in keiner Weise störend beeinflussen. Nach den

* "Perfusor", Fa. Braun, Melsungen

**"Custocor" nach Prof. Dr. Th. v. Uexküll, Fa. Vogel, Gießen

Untersuchungen von YOSHINAGA u. Mitarb. (59) soll der Organismus überhaupt kein Angiotensin im Urin ausscheiden.

Ergebnisse bei jugendlichen Normotonikern

Die Versuche wurden zunächst an gesunden, normotonen Jugendlichen durchgeführt. Die Blutdruckwerte betragen bei Aufnahme im Mittel 120/70 mm Hg und zeigten unter Kochsalzentzug eine geringe Erhöhung des diastolischen Wertes auf durchschnittlich 75 mm Hg. Unter der Behandlung mit der Kempner-Reisdiät und dem Esidrix kam es zu einem Gewichtsverlust von etwa 2,5 kg. Die täglich im Urin ausgeschiedenen Natriummengen verminderten sich von anfangs 4,6 g/Tag im Laufe der Diät auf durchschnittlich 0,4 g/Tag. Es ist zu vermuten, daß die Na-Ausscheidung am 3. Versuchstag, also am 1. Tag nach Gabe von Esidrix und Kempner-Diät, vorübergehend deutlich über dem Ausgangswert gelegen hat. Wir haben jedoch an diesem Tag aus labor-technischen Gründen keinen Urin untersucht. Am 5. Tag, dem 3. Tag der kochsalzarmen Phase, war die Na-Ausscheidung trotz Esidrix um über 70 % vermindert. Die täglich ausgeschiedenen Mengen an Kalium veränderten sich nur gering (s. Abb. 3). Die 24 Std.-Urinmengen zeigten zu Beginn der kochsalzarmen Phase ihr Maximum mit 1000 - 1100 ccm/Tag (Abb. 3).

Bei Bestimmung der täglich im Urin ausgeschiedenen Mengen an Adrenalin und Noradrenalin (vgl. Tab. 7) zeigte sich folgendes Verhalten: Die am 1. Versuchstag gemessenen Mengen betrugen im Durchschnitt für Noradrenalin 46,8 γ /Tag, für Adrenalin 11,2 γ /Tag. Im Laufe der kochsalzarmen Phase, im Urin kenntlich an der zunehmend geringeren Na-Ausscheidung, zeigte sich bei allen Versuchspersonen ein deutlicher Anstieg der täglich im Urin ausgeschiedenen Noradrenalinmengen auf durchschnittlich 67,7 γ /Tag, das sind 45 % mehr als der Ausgangswert. Die Adrenalinmengen nahmen um 75 % zu auf 19,7 γ /Tag, wobei das Maximum allerdings schon am 3. Tag nach NaCl-Entzug, also insgesamt am 5. Versuchstag erreicht wurde. Jeweils an den Tagen der Angiotensininfusion, sowohl vor wie nach NaCl-Entzug, waren die ausgeschiedenen Noradrenalinmengen deutlich vermindert, bei der 1. Infusion um durchschnittlich 30,6 % gegenüber dem Vortag, bei der 2. Infusion um 12,2 %. Um dieses Phänomen zu sichern, haben wir in 4 Fällen die Noradrenalinkonzentration in der 1. Urinprobe nach der Infusion gemessen und sie mit der Konzentration im 24 Std.-Sammelurin verglichen. Dabei zeigte sich der Unterschied noch deutlicher (s. Tab. 5).

Das gleichsinnige Verhalten der Noradrenalinausscheidung innerhalb der Gruppe der Normotoniker wurde durch Anwendung des t-Testes im paarweisen Vergleich geprüft. Der prozentuale Abfall vom 1. zum 2. Tag, bzw. der Anstieg vom 1. zum 7. Tag waren bei p -Werten $< 0,02$ signifikant, weniger signifikant war die Abnahme vom 7. zum 8. Tag ($p > 0,05, < 0,1$).

In Abb. 3 haben wir die Mittelwerte der ausgeschiedenen Katecholamine aufgetragen und gleichzeitig die durchschnittlich ausgeschiedenen Urin- und Elektrolytmengen.

Tab. 5: NoradrenalinKonzentration in $\mu\text{g}/\text{ml}$
im 24 Std.-Urin und in einer Urinprobe

A = nach der 1. Angiotensin-Infusion
B = nach der 2. Angiotensin-Infusion

Versuch		24 Std.-Urin	Urinprobe
13	A	0,03	0,017
	B	0,178	0,123
14	A	0,017	0,007
	B	0,082	0,04

Ergebnisse bei Jugendlichen mit essentieller Hypertonie

Die gleichen Versuche führten wir mit 4 Jugendlichen im Alter von 16 - 30 Jahren durch, die der Definition nach essentielle Hypertoniker waren. Bei der Aufnahme wurde ein durchschnittlicher Blutdruck von 160/91 mm Hg registriert. Unter der kochsalzarmen Behandlung kam es zu einer Verkleinerung der Blutdruckamplitude durch Abfall der systolischen und Anstieg der diastolischen Werte auf einen Mittelwert von 141/94 mm Hg am 7. Tag. Am Ende der Versuchsperiode zeigte nur noch ein Patient eine deutlichere Blutdruckerhöhung mit 145/100 mm Hg (s. Tab.6). Die täglich im Urin ausgeschiedenen Na-Mengen verringerten sich unter der Kempner-Diät und dem Esidrix von an-

fangs 4,3 g auf durchschnittlich 0,25 g/Tg. Die Kaliumwerte im Urin nahmen von 2,0 g/Tag auf 2,8 g/Tag zu (s. Abb.4). Das Maximum der 24 Std.-Urinmenge wurde am Ende der kochsalzarmen Phase mit 1250 - 1350 ccm erreicht.

Tab. 6: Blutdruck der essentiellen Hypertoniker während der Versuchsperiode

Versuch Nr.	Versuchstage				
	1.	2.	5.	7.	8.
21	160/90	145/90	135/85	140/80	140/80
22	155/90	150/90	145/95	145/105	145/100
23	165/100	150/90	145/100	140/100	140/90
24	160/85	160/75	145/80	145/85	150/80

Die während der Versuchsperiode bei den einzelnen Hypertonikern gemessenen Mengen an Adrenalin und Noradrenalin im 24 Std.-Urin sind in Tab. 7 wiedergegeben. Im Mittel betrugen die ausgeschiedenen Mengen bei Aufnahme für Noradrenalin 49 γ , für Adrenalin 9,2 γ /Tag.

Während der 5 Tage NaCl-Entzug kam es auch hier zu einem deutlichen Anstieg der Katecholaminausscheidung. Für Noradrenalin wurde eine durchschnittliche Zunahme um 47 % auf 72 γ /Tag registriert, für Adrenalin um 53 % auf 14,1 γ /Tag. Das Maximum der Adrenalinausscheidung lag jedoch im Einzelfall zeitlich sehr unterschiedlich (s.Tab.7).

Auch bei den Hypertonikern konnten wir an den Tagen der Angiotensinininfusionen eine deutlich verminderte Noradre-

nalinausscheidung registrieren. Nach der 1. Infusion war sie durchschnittlich um 21 % niedriger als am Vortage, nach der 2. Infusion um 25 % (vgl. Abb. 4). Der t-Test im paarweisen Vergleich der Hypertoniker an den einzelnen Versuchstagen zeigt auch hier ein gleichsinniges Verhalten im prozentualen Abfall, bzw. Anstieg der Noradrenalin-ausscheidung mit Signifikanzen von $p < 0,005$ (1. - 2. Tag), $p < 0,01$ (1. - 7. Tag) und $p < 0,01$ (7. - 8. Tag).

4. Verhalten der Blutdruckwerte während Angiotensininfusion

BURKHARDT (8) hat die Infusion von Angiotensin angewandt, um die Reagibilität des essentiellen Hypertonikers auf einen pressorischen Reiz, vor und nach NaCl-Entzug, anhand der Blutdruckwerte zu messen. Wir benutzten die gleiche Versuchsanordnung, um das Verhalten der Katecholamin-ausscheidung auf einen pressorischen Reiz zu untersuchen. Dabei haben wir gleichzeitig versucht, die Befunde von BURKHARDT zu überprüfen.

a) Vor NaCl-Entzug

Normotoniker und Hypertoniker reagierten auf die Angiotensininfusion mit einem deutlichen Anstieg der systolischen und diastolischen Blutdruckwerte. Der Ruheblutdruck betrug bei den Normotonen im Durchschnitt 120/70 mm Hg. Während der Infusion kam es bei den verschiedenen Dosen von 0,002 γ , 0,01 γ und 0,02 γ /kg/min. zu einer prozentualen systolischen und diastolischen Steigerung des Basiswertes von durchschnittlich 4/14 %, 10/31 % und 15/44 % (Tab. 8).

Die Hypertoniker hatten im Mittel einen Ruhewert von 151/86 mm Hg. Bei ihnen nahm der Blutdruck bei den gleichen Dosen um 3/7 %, 10/22 % und 17/34 % zu (Tab. 8).

Die Einzelwerte zeigten in beiden Gruppen doch ziemliche Schwankungen. Das erklärt wahrscheinlich auch den bei den Normotonikern im Durchschnitt stärkeren Anstieg des diastolischen Blutdrucks.

b) Nach NaCl-Entzug

Bei der 2. Infusion nach 5 Tagen Kochsalzentzug zeigten beide Gruppen einen wesentlich schwächeren Anstieg des Blutdrucks. Die normotonen Versuchspersonen hatten bei einem Ruheblutdruck von 120/75 mm Hg eine durchschnittliche prozentuale Steigerung von 3/8 %, 7/19 % und 10/28 %.

Die Hypertoniker reagierten noch geringer. Ihr Basiswert lag jetzt im Durchschnitt bei 144/87 mm Hg. Die Blutdruckwerte erhöhten sich nur um 1/3 %, 3/11 % und 7/20 % bei den verschiedenen Infusionsgeschwindigkeiten (Tab. 8).

Nebenwirkungen im Sinne von Druckgefühl auf der Brust mit steigendem Blutdruck konnten wir nicht beobachten.

Tab. 7 : Adrenalin- und Noradrenalinausscheidung
unter NaCl-Entzug und Angiotensininfusion

1. - 2. Tag vor

3. - 7. Tag während

8. Tag nach NaCl-Entzug

Angiotensininfusion am 2. und 8. Tag

Nr. 11 - 14 Normotoniker

Nr. 21 - 24 Essent. Hypertoniker

A = Adrenalin

NA= Noradrenalin in μ g/24 Std.-Urin

Versuch Nr.	NA A	Versuchstage				
		1.	2.	5.	7.	8.
11	NA	45,6	30,4	42,0	64,0	50,2
	A	14,5	14,5	17,5	19,1	16,2
12	NA	59,0	43,0	42,8	69,8	61,5
	A	8,6	14,3	17,2	20,3	16,1
13	NA	49,3	30,0	71,0	79,0	78,0
	A	11,2	13,4	21,4	13,2	19,8
14	NA	31,8	27,3	56,1	58,2	47,4
	A	10,5	12,9	22,7	18,5	9,0
Durch- schnitt	NA	46,8	32,5	52,7	67,7	59,4
	A	11,2	13,8	19,7	17,8	15,3
21	NA	38,0	31,6	43,2	58,0	40,0
	A	9,6	12,3	12,6	13,8	10,0
22	NA	59,0	48,0	61,0	81,0	63,0
	A	10,7	9,0	9,4	17,3	11,5
23	NA	46,5	33,0	68,0	79,0	53,0
	A	7,8	14,7	12,4	14,8	8,2
24	NA	52,0	41,0	66,0	70,0	59,0
	A	8,8	16,5	15,1	10,4	7,8
Durch- schnitt	NA	49,0	38,4	59,5	72,0	54,0
	A	9,2	13,1	12,4	14,1	9,4

Abb. 3 : Normotoniker unter Kochsalzentzug und Angiotensin
(Mittelwerte von 4 Versuchspersonen)

Tägl. Ausscheidung von Noradrenalin (NA), Adrenalin (A), Natrium (Na) u. Kalium (K) im 24 Std.-Urin (in ml)

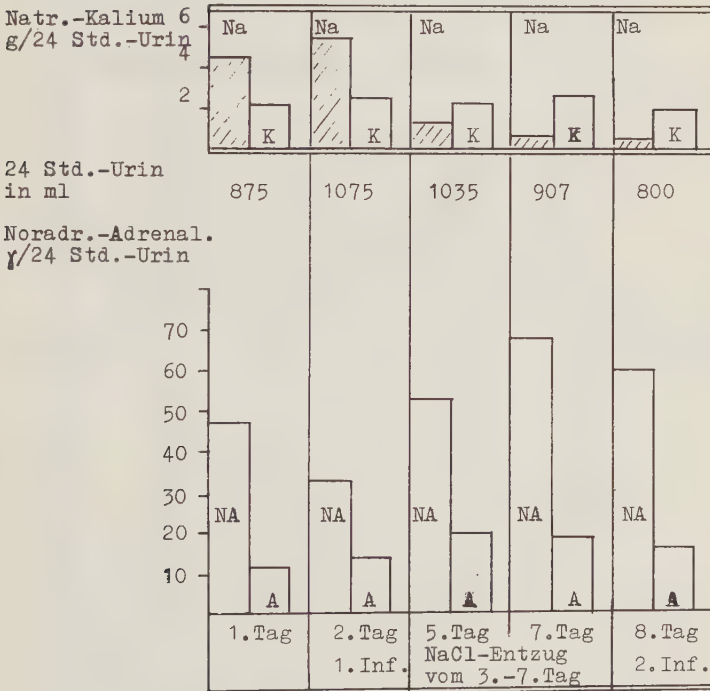
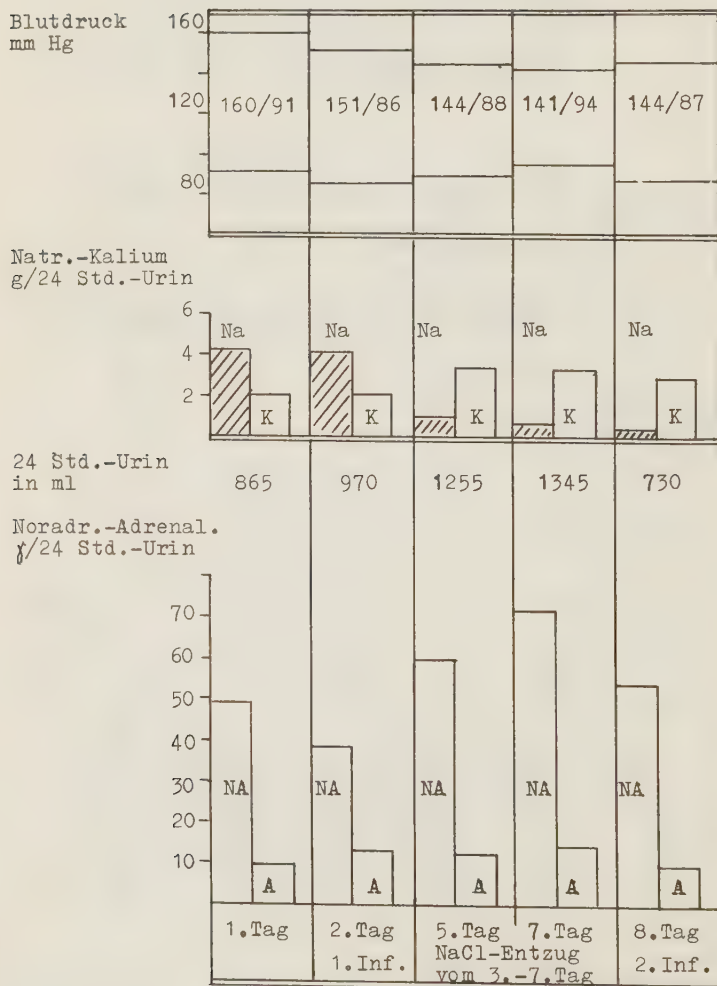


Abb. 4 :

Essentielle Hypertoniker unter
Kochsalzentzug u. Angiotensin
(Mittelwerte von 4 Versuchspersonen)

Veränderungen von Blutdruck,
der Ausscheidung von Noradrenalin (NA)
Adrenalin (A), Natrium (Na) u. Kalium (K)
im 24 Std.-Urin (in ml)



Tab. 8 : Blutdruck während Angiotensininfusion

A = vor, B = nach NaCl-Entzug

Nr. 11 - 14 Normotoniker

Nr. 21 - 25 Essent. Hypertoniker

Zunahme des Blutdrucks in mm Hg.

Bei den Durchschnittswerten Zunahme

in % des Ruhewertes (Systol./Diastol.)

Versuch Nr.	Ruhewert mm Hg	Blutdruckanstieg bei Angiotensinmengen/kg./min. von		
		0,002g	0,01g	0,02g
11 A	120/70	6/16	4/12	3/6
B	115/75	6/9	5/8	4/8
12 A	125/75	6/11	10/11	7/12
B	120/80	5/8	3/12	7/11
13 A	120/75	5/8	7/11	5/7
B	120/80	2/3	4/4	3/3
14 A	115/70	4/6	8/14	8/10
B	120/65	3/4	4/7	4/8
Durchschnitt		in %		
A	120/70	4/14	10/31	15/44
B	120/75	3/8	7/19	10/28
21 A	145/90	4/6	12/15	8/10
B	140/80	1/3	2/8	6/9
22 A	150/90	3/5	14/13	8/7
B	145/100	0/1	2/4	7/7
23 A	150/90	6/6	19/10	15/12
B	140/90	4/5	7/7	5/6
24 A	160/75	5/5	10/12	7/11
B	150/80	2/4	5/7	4/7
Durchschnitt		in %		
A	151/86	3/7	10/22	17/34
B	144/87	1/3	3/11	7/20

D i s k u s s i o n

1. Normalwerte der Katecholaminausscheidung

Aus den unterschiedlichen Arbeits- Reaktions- und Auswertungsmethoden ergibt sich, daß die von verschiedenen Arbeitsgruppen gewonnenen normalen Katecholaminausscheidungen nicht genau übereinstimmen können. So ist zum Beispiel bei der Bestimmung der Gesamtkatecholamine (nach saurer Hydrolyse des Urins) die zu erwartende Menge um das 1,5.- 3-fache höher als bei der Bestimmung lediglich des freien Anteils (ohne Hydrolyse).

Die von uns ermittelten Normalwerte, für Adrenalin 5 - 20 γ , für Noradrenalin 20 - 70 γ /24-Std.-Urin, stimmen gut überein mit den Werten anderer Autoren, sofern ähnliche Untersuchungsbedingungen eingehalten werden. RITZEL u. HUNZINGER (50) fanden durchschnittlich 23 γ Adrenalin und 58 γ Noradrenalin, KNAUFF u. VERBEEK (39) 9,2 γ Adrenalin, 40 γ Noradrenalin im 24-Std.-Urin. Von v.EULER u. Mitarb. (21) werden etwa 5 γ Adrenalin und 30 γ Noradrenalin pro Tag als normal angegeben.

Andere Untersucher differenzieren nicht in Adrenalin und Noradrenalin und geben beides zusammen als "Noradrenalin-äquivalente" an. GOLDENBERG u. Mitarb.(29) geben 11 - 41 γ /24-Std.-Urin als normal an, BETTGE (4) 11 - 45 γ (biolog. Methode), SCHLOSSMANN u. Mitarb.(54) 25 - 50 γ , SCHÜMANN (55) etwa 50 γ /24-Std.-Urin. Von einigen Untersuchern wer-

den auch höhere Normalwerte mitgeteilt, z.B. von LAUBER (43) etwa 0 - 44 γ Adrenalin und 100 - 200 γ Noradrenalin/Tag, von PEYRIN (48) 10 - 50 γ Adrenalin. 50 - 200 γ Noradrenalin/Tag. Beide Untersucher haben den Urin zunächst hydrolysiert.

Trotz der unterschiedlichen Normalwerte kann man übereinstimmend sagen, daß erst eine Erhöhung der Katecholaminausscheidung um etwa das 4-fache der Norm auf ein Phäochromocytom verdächtig ist. Bei einem Patienten mit anfallsweisen Blutdrucksteigerungen konnten wir nach einem solchen Zustand zunächst noch 300 - 400 γ Noradrenalin im 24 Std.-Urin registrieren. Die Werte kehrten jedoch bald zur Norm zurück. Es wurde der Verdacht auf ein Phäochromocytom erhoben, welches allerdings noch nicht verifiziert werden konnte.

In Übereinstimmung mit der Literatur betrug bei uns das Verhältnis Adrenalin zu Noradrenalin etwa 1:3 - 1:4.

2. Ergebnisse bei essentiellen Hypertonikern

Die Frage Katecholamine - essentielle Hypertonie überschneidet sich mit der Frage nach der Bedeutung nervaler Faktoren für den erhöhten Blutdruck (34). Die bei unseren Hypertonikern gewonnenen Ergebnisse zeigten keine wesentlichen Unterschiede zu den Normalwerten gesunder Kontrollpersonen. Allerdings ist die Zahl der untersuchten Hypertoniker zu gering, so daß nicht auszuschlies-

sen ist, ob nicht doch in einem gewissen Prozentsatz die Katecholaminausscheidung gegenüber der Norm erhöht ist.

Die meisten Literaturangaben berichten, daß nur bei etwa 15 % oder weniger der Hypertoniker erhöhte Katecholamine festgestellt wurden (34, 40, 5, 56, 39). RITZEL u. HUNZINGER (50) haben lediglich eine leicht erhöhte Exkretion für Noradrenalin festgestellt. Andere Untersucher konnten überhaupt keinen Unterschied zwischen Normotonen und Hypertonen hinsichtlich ihrer Katecholaminausscheidung feststellen (52, 15, 33, 46). Eine Überaktivität des sympathiko-adrenalen Systems mit vermehrter Produktion von Katecholaminen als Ursache der Hypertonie scheint generell nicht vorzuliegen. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß die in einem geringen Prozentsatz vorhandene Überproduktion von Katecholaminen unter gewissen Bedingungen ein Teilfaktor für die Hypertonie sein kann (17). - Es besteht damit eine Analogie zu den Befunden von GENEST u. Mitarb., die in einem bestimmten Prozentsatz bei essentiellen Hypertonikern eine gesteigerte Aldosteronausscheidung feststellen konnten, ohne damit einen wesentlichen ätiologischen Faktor beweisen zu können (27). - Eine gestörte Inaktivierung der Katecholamine wird von SATO u. Mitarb. (52) verneint. Von ROTH (51) werden in einer Übersichtsarbeit SWAN u. MENDLOWITZ zitiert, die vermuten, daß bei der Hypertonie das Gefäßsystem überempfindlich auf normale Katecholamin-

mengen reagiert. Quantitativ jedenfalls scheinen die Katecholamine bei der essentiellen Hypertonie nicht verändert zu sein.

3. Kochsalzentzug und Katecholamine

Seit ALLEN und SHERILL, zitiert bei ZIPP und Mitarb. (61), ist es eine Erfahrungstatsache, daß der erhöhte arterielle Blutdruck durch Kochsalzrestriktion gesenkt werden kann, wenn auch der Mechanismus, über den dies geschieht, bis heute noch ungeklärt ist (30).

Auch wir konnten während der 5 Tage Kochsalzentzug bei unseren essentiellen Hypertonikern einen deutlichen Abfall der systolischen Blutdruckwerte feststellen mit gleichzeitiger Zunahme der diastolischen Werte. Die kontinuierliche Abnahme der Na-Ausscheidung im Urin bewies, daß die Na-Zufuhr auch tatsächlich eingeschränkt war. Ein bemerkenswerter Befund war die deutliche Zunahme der täglich ausgeschiedenen Noradrenalinmengen im Verlauf der Natriumrestriktion, und zwar bei normotonen und hypertonen Versuchspersonen um rund 45 % gegenüber dem Ausgangswert zu Beginn der Versuchsperiode. Bei einem p-Wert $> 0,2$ bestand kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Das Verhalten der Adrenalinwerte war zwar individuell unterschiedlicher, zeigte aber doch ebenfalls eine Zunahme unter NaCl-Entzug.

Wenn man den Zusammenhang zwischen NaCl-Entzug und Anstieg der Katecholaminausscheidung kausal zu erklären versucht, hat man eine Fülle von Hypothesen zur Auswahl.

Die Auffassung der meisten Untersucher geht heute dahin, daß die antihypertensive Wirkung einer Natriumrestriktion in der Initialphase der Behandlung am besten durch eine Verminderung des Plasma-Volumens erklärt werden kann (26, 13, 47, 57). Das kann allerdings nicht die alleinige Ursache sein, denn sonst müßte beim Normotonen ebenfalls der systolische Blutdruck abfallen. Der Dauereffekt einer Blutdrucksenkung liegt wahrscheinlich in Veränderungen des extra- und intrazellulären Natriumkonzentrationsgradienten.

Uns interessierte die Initialphase, daher haben wir nicht länger als 5 Tage die Wirkung der Natriumrestriktion auf Blutdruck und Katecholaminausscheidung verfolgt. Es liegt nahe, in dem Anstieg der Katecholaminausscheidung eine Art Kompensationsmechanismus für die antihypertensive Wirkung des NaCl-Entzuges zu sehen. Auslösend wirken wahrscheinlich die hämodynamischen Folgen des Kochsalzentzuges und nicht der veränderte Na-Gehalt direkt. Zum Beweis müßte man die Katecholamine nach Auffüllen des Volumens bestimmen. Es ist bekannt, daß nach Verminderung des Plasmavolumens der periphere Strömungswiderstand und der Vasomotorentonus zunehmen (13, 47, 8). Der Anstieg der Pulsfrequenz, des diastolischen Blutdrucks und der Pulswellengeschwindigkeit mögen hierfür ein Beispiel sein. Die gesteigerte Katecholaminausscheidung im Urin, welcher eine vermehrte Ausschüttung in die Blutbahn vorausgeht, ist als Ausdruck des kom-

pensatorisch erhöhten Vasomotorentonus anzusehen. Diese Beobachtung unterstreicht die Bedeutung der Katecholamine für die Tonisierung des Gefäßsystems. Die Tatsache, daß normotone und hypertone Versuchspersonen fast gleichsinnig reagieren, läßt aber in diesem Zusammenhang daran zweifeln, ob den Katecholaminen eine wesentliche Rolle bei der essentiellen Hypertonie zukommt.

4. Katecholamine und Angiotensin

Unsere Beobachtung, daß bei allen Versuchspersonen - p-Werte $> 0,2$ bzw. $> 0,1$ ergaben keine gesicherten Unterschiede zwischen Gesunden und Hypertonikern -, sowohl vor wie nach Kochsalzentzug, am Tag der Angiotensininfusionen eine gegenüber dem Vortag verminderte Noradrenalinausscheidung vorliegt, spricht ebenfalls für einen Kompensationsmechanismus. Es ist bekannt, daß sowohl Noradrenalin wie Angiotensin den Blutdruck systolisch und diastolisch erhöhen. Offenbar versucht der Organismus, die blutdrucksteigernde Wirkung des Angiotensins durch Herabsetzen des Vasomotorentonus zu kompensieren, eventuell in einer gegenregulatorischen Nachschwankung.

Nach BRAUN-MENENDEZ (7) soll Angiotensin außerdem eine Abgabe von Adrenalin aus dem Nebennierenmark verursachen. Wir konnten bei einigen Versuchspersonen nach den Infusionen eine erhöhte Adrenalinausscheidung feststellen, es ist jedoch fraglich, ob darin eine Angiotensinwirkung zu sehen ist.

In jüngster Zeit wurde von LIEBAU u. Mitarb. (44) im Tierexperiment festgestellt, daß in der Wand isolierter Blutgefäße nach Besspülen mit Angiotensin der Noradrenalin-gehalt vermindert war. Sie schlossen daraus auf eine zusätzliche indirekte vasokonstriktorische Wirkung des Angiotensins durch Freisetzung von Noradrenalin aus der Gefäßwand. Falls man diesen Befund auch für den Menschen postuliert und die Noradrenalinfreisetzung ins Gewicht fällt, dürfte die Noradrenalinausscheidung im Urin keineswegs vermindert sein, wie wir es bei unseren Versuchspersonen feststellen konnten.

5. Blutdruck nach Angiotensin und Kochsalzentzug

Bei der Messung des Blutdrucks nach Angiotensininfusionen ging es uns darum, die schon in einer früheren Arbeit von BURKARDT (8) erhobenen Befunde zu überprüfen.

Wie zu erwarten erfolgte unter Angiotensininfusionen ein deutlicher Anstieg der Blutdruckwerte, besonders der diastolischen.

In Übereinstimmung mit BURKARDT konnten wir nach 5 Tagen NaCl-Entzug eine deutlich verminderte Reaktion auf den pressorischen Reiz der Angiotensininfusion feststellen. Allerdings reagierten unsere Hypertoniker sowohl vor wie nach Kochsalzentzug etwas schwächer als die normotonen Kontrollpersonen, bei denen BURKARDT im Vergleich mit den Hypertonikern jeweils eine geringe-

re Reaktion feststellen konnte. Die Abnahme der Reagibilität auf einen pressorischen Reiz nach NaCl-Entzug ist schon mehrfach beschrieben, aber eine sichere Erklärung bisher noch nicht gefunden (42, 11, 8, 26). Auch wir glauben, daß u. a. Veränderungen des Plasmavolumens und des Na-Gradienten dafür verantwortlich sind.

Wir haben in unseren Untersuchungen einige für die Blutdruckregulation wichtige Faktoren studiert. Als mögliche Ursache für die essentielle Hypertonie können wir sie jedoch nicht verwerten, da die Ergebnisse bei Normotonen und essentiellen Hypertonikern keine wesentlichen Unterschiede zeigten. Wir konnten feststellen, daß auch beim essentiellen Hypertoniker die Katecholaminfreisetzung nicht autonom ist, sondern regulativ verändert werden kann.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird ein Verfahren zur quantitativen fluorimetrischen Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin im Urin beschrieben, basierend auf der THI-Methode von v. EULER u. FLODING (18) und Modifikationen anderer Untersucher. Einige sich als vorteilhaft erweisende Veränderung werden mitgeteilt. Die Rückgewinnungsraten betragen für Adrenalin $80,7 \pm 9\%$, für Noradrenalin $80,0 \pm 7\%$.
2. Bei 15 Normotonen und 10 essentiellen Hypertonikern werden die täglich im Urin ausgeschiedenen Katecholamine bestimmt. Bei den Normotonen liegen die Adrenalinmengen in einem Bereich von $5 - 20 \mu\text{g}$ ($9,9 \pm 2,7 \mu\text{g}$), die Noradrenalinmengen schwanken zwischen $20 - 70 \mu\text{g}$ ($45,5 \pm 10 \mu\text{g}$) im 24 Std.-Urin. Die Gruppe der essentiellen Hypertoniker zeigt eine Adrenalinausscheidung zwischen $5 - 20 \mu\text{g}$ ($10,1 \pm 1,1 \mu\text{g}$) bei Noradrenalinmengen von $30 - 70 \mu\text{g}$ ($51,6 \pm 8,5 \mu\text{g}$) im 24 Std.-Urin.
3. Unter einer kochsalzarmen Diät über fünf Tage zeigt sich eine Zunahme der täglich ausgeschiedenen Noradrenalinmengen um 45% (Normotoniker) bzw. 47% (Hypertoniker).
4. Nach Angiotensininfusionen vor und nach Kochsalzentzug ist in beiden Gruppen die Noradrenalinausscheidung gegenüber dem Vortag jeweils deutlich vermindert.

Anm. zu 3. und 4.: Der prozentuale Anstieg bzw. Abfall der Noradrenalinausscheidung ist innerhalb beider Versuchsgruppen nach dem t-Test im paarweisen Vergleich signifikant.

5. Die Blutdruckwerte zeigen unter der 2. Angiotensininfusion am Ende der kochsalzarmen Phase bei Normotonen und Hypertonen eine verminderte Reagibilität an.
6. Die Ergebnisse werden diskutiert. Die Katecholaminfreisetzung unterliegt regulativen Veränderungen. Zwischen Normotonen und essentiellen Hypertonikern findet sich, auch nach statistischer Analyse im t-Test, kein wesentlicher Unterschied.

Literaturverzeichnis

1. Atkinson, B., : A method für the estimation of adre-
N.A. Wynne : naline and noradrenaline in urine.
J. Pharm. (Lond.) 14: 794 (1962)
2. Bertler, A., : A method for the fluorimetric deter-
A. Carlsson, : mination of adrenaline and noradre-
E. Rosengreen : naline in tissues.
Acta physiol. scand 44: 273 (1958)
3. Bettge, S. : Zur Diagnostik des Phäochromöcytoms
mittels des Adrenalin-Arterenolnach-
weises im Urin.
Med. Welt, 1627 (1963)
4. Bettge, S. : Untersuchungen über den Nachweis der
sympathikomimetischen Hormone im
Blut und Urin des Menschen.
Z. Kreislaufforschg. 49: 534 (1960)
5. Bettge, S. : Untersuchungen über die Urinaus-
scheidung der sympathikomimetischen
Hormone bei Hypertonikern.
Z. Kreislaufforschg. 49: 543 (1960)
6. Bock, K.D., : Untersuchungen über die Wirkung von
H.J. Krecke, : synthetischem Hypertensin II auf
H.M. Kuhn : Blutdruck, Atmung und Extremitäten-
durchblutung des Menschen.
Klin. Wschr. 36: 254 (1958)
7. Braun-Menéndez, E.: Pharmacology of renin and angiotensin.
Pharmacol. Rev. 8: 25 (1956)
8. Burkhardt, H. : Die Reagibilität des essentiellen
Hypertonikers auf pressorische Reize
vor und nach Kochsalzentzug.
Dissertation 1965, Gießen
9. Cohen, G., : The simultaneous fluorimetric deter-
M. Goldenberg : mination of adrenaline and noradre-
naline in plasma I.
J. Neurochem. 2: 38 (1957)
10. Crawford, T.B.B., : A method for the estimation of adre-
W. Law : naline and noradrenaline in urine.
J. Pharm 10: (1958)
11. Demanet, J.C., : Sensibilité vasculaire à la noradre-
P.A. Bastenie : naline dans l'insuffisance cortico-
surrénalienne. Influence du sodium
et de l'aldostérone.
Schweiz. med. Wschr. 94: 883 (1964)

12. Dengler, H., : Die Katecholaminausscheidung bei
H. Klemm, Infektionskrankheiten.
G. Reichel Klin. Wschr. 37: 789 (1959)
13. Dustan, H.P., : A mechanism of chlorothiazide-
G.R. Cumming enhanced effectiveness of antihyper-
A.C. Corcoran, tensives ganglioplegic drugs.
J.H. Page Circulation 19: 360 (1959)
14. Ehrlén, J. : Fluorimetric determination of
adrenaline.
Farm. Rev. 47: 242 (1948)
15. Eich, R.H., : Blood concentration of catechol-
R.P. Cuddy, amines and their hemodynamic
J.A. Barry, effects in man.
H. Smulyan Amer. J. Cardiol. 10: 819 (1962)
16. Elmadjian, F., : Excretion of epinephrine and nor-
J.M. Hope, epinephrine in various emotional
E.T. Lamson states.
J. clin. Endocrin. 5: 608 (1957)
17. Euler, U.S.v. : Catecholamine excretion in urine
in case of hypertension.
Hypertension, Symposium London 1954, 200
18. Euler, U.S.v., : A fluorimetric micromethod for differ-
J. Floding ential estimation of adrenaline and
noradrenaline. Fluorimetric estima-
tion of noradrenaline and adrenaline
in urine.
Acta physiol. scand. 33. Suppl.
118: 45, 57 (1955)
19. Euler, U.S.v., : Excretion of noradrenaline, adrena-
S. Hellner line and hydroxytyramine in urine.
Acta physiol. scand. 22: 161 (1951)
20. Euler, U.S.v., : Excretion of adrenaline and noradre-
S. Hellner naline in muscular work.
Acta physiol. scand. 26: 183 (1952)
21. Euler, U.S.v., : Diurnal variations in the excretion
S. Hellner- of free and conjugated noradrenaline
Björkman, and adrenaline in urine from healthy
I. Orwen subjects.
Acta physiol. scand. 33. Suppl.
118: 10 (1955)
22. Euler, U.S.v., : The estimation of catecholamines
F. Lishajko in urine.
Acta physiol. scand. 45: 122 (1959)

23. Euler, U.S.v., : Noradrenaline output in urine after
R. Luft infusion in man.
Brit. J. Pharmacol. 6: 286 (1951)
24. Euler, U.S.v., : Preparation of extracts of urine
I. Orwen and organs for estimation of free
an conjugated noradrenaline and
adrenaline.
Acta physiol. scand 33. Suppl.
118: 1 (1955)
25. Frahm, M. : Die chemische Diagnostik des
Phäochromocytoms.
Dtsch. med. Wschr. 89: 2195 (1964)
26. Freis, E.D. : Mechanismus der blutdrucksenkenden
Wirkung von Saluretika.
Essentielle Hypertonie, Symposium
Bern 1960
27. Genest, J., : Nebennierenrindenfunktion bei
W. Nowaczynski, essentieller Hypertonie.
E. Koiw, T. San- Essentielle Hypertonie, Symposium
dor, P. Biron Bern 1960
28. Georges, P., : Le diagnostic biochimique de phéo-
J. Savel chromocytomes par le dosage des cat-
echolamines urinaires. Etude critique
de la method fluorimetrique.
Path. et Biol. 11: 472 (1963)
29. Goldenberg, M., : Chemical screening methods for the
J. Serlin, diagnosis of pheochromocytoma.
Th. Edwards, Amer. J. Med. 16: 316 (1954)
M.M. Rapport
30. Grollman, A. : The relationship of salt and diet to
diastolic hypertension. Symposium.
Amer. J. Cardiol. 9: 700 (1962)
31. Gross, F. : Renin und Hypertensin. Physiologische
und pathologische Wirkstoffe.
Klin. Wschr. 36: 46 (1958)
32. Gross, F. : Some contributions of the pharma-
K.D. Bock cology of synthetic Angiotensin.
Symposium on Agiotensin of the
American Heart Assoc. 1962
33. Hochuli, E. : Adrenalin und Noradrenalinbestim-
mungen im Blutplasma bei schweren
Präeklampsien und essentiellen
Hypertonien.
Klin. Wschr. 37: 1196 (1959)

34. Holtz, F. : Brenzkatechinamine und essentielle Hypertonie.
Verh.dtsch.Ges.Kreisl.-Forsch.
28.Tg.: 27 (1962)
35. Holtz, P., K. Credner, G. Kroneberg : Über das sympathikomimetische pressorische Prinzip des Harns (Urosympathin)
Arch.exp.Path.Pharmak.
204: 228 (1944/47)
36. Imhof, P., A. Hürhmann, B. Steinmann : Periphere Kreislaufuntersuchungen mit synthetischem Hypertensin II.
Cardiologica 34: 120 (1958)
37. Jacobs, S.L., Ch. Sobel, R.J. Henry : Spezifity of the trihydroxyindol-method für determination of urinary catecholamines.
J. clin. Endocrin. 21: 305 (1961)
38. Kirshner, N., Mc.C.Goodall, L. Rosen : Metabolism of dl-Adrenaline-2-C¹⁴ in the human.
Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.)98: 627 (1958)
39. Knauff, H.G., G. Verbeek : Fluorimetrische Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin im Harn. Ergebnisse bei Gesunden und Patienten mit Hypertonus.
Klin. Wschr. 40: 18 (1962)
40. Kuschke, H.J. : Untersuchungen über den Erregungszustand des sympathischen Nervensystems und des Nebennierenmarks bei kardiovaskulären Erkrankungen.
Arch.Kreisl.-Forsch. 36: 104 (1961)
41. Kuschke, H.J., R. Heizer : Die Brenzkatechinaminausscheidung bei essentieller Hypertonie unter orthostatischer Belastung.
Verh.dtsch.Ges.Kreisl.-Forsch.
28.Tg.: 232 (1962)
42. Laragh, J.H., P.J. Cannon, R.P. Ames : Interaction between aldosterone secretion, sodium and potassium balance and angiotensin activity in hypertension and cirrhosis.
Canad. med. Ass. J. 90: 248 (1964)
43. Lauber, K. : Eine vereinfachte Methode zur Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin im Harn.
Z.Klin.Chemie/2.Jahrg. 1964, Heft 3

44. Liebau, H.,
A. Distler,
H.P.Wolff : Untersuchungen zur indirekten
sympathomimetischen Wirkung von An-
giotensin an isolierten Blutgefäßen.
Klin. Wschr. 44: 322 (1966)
45. Lund. A. : Fluorimetric determination of adre-
naline in blood. III. A new sensitive
and spezific method.
Acta pharmacol. (Kbh). 5: 231 (1949)
46. Manger, W.M. : Observations on plasma catecholamines
in patients with diastolic hyper-
tension. Symposium.
Amer. J. Cardiol. 9: 731 (1962)
47. Mertz, D.P.,
H. Keine : Über das Verhalten physiologisch
aktiver extrazellulärer Volumenphasen
bei essentieller Hypertonie und den
Mechanismus der antihypertensiven
Wirkung einer Na-Restriktion.
Klin. Wschr. 39: 1123 (1961)
48. Peyrin, L. : Dosage des catécholamines urinaires
method fluorimetrique.
Rev.franc,Et.clin.biol.9: 1096 (1964)
49. Price, H.L.,
M.L. Price : The chemical estimation of epi-
nephrine and norepinephrine in human
and canine plasma.II.A critique of the
trihydroxyindol-method.
J. Lab. clin. Med. 50: 769 (1957)
50. Ritzel, G.,
W.A. Hunzinger : Über die Bestimmung von Katechol-
aminen im Urin.
Klin. Wschr. 41: 419 (1963)
51. Roth, G.M. : The role of the catecholamines in
hypertension.
Amer. J. Cardiol. 9: 724 (1962)
52. Sato, T.,
K. Yoshinaga,
Y.Wada, N.Ishida
C. Itoh : Urinary excretion of chatecholamines
and their metabolites in normoten-
sive and hypertensive subjects.
Tohoku J.exp.Med. 75: 151 (1961)
53. Schaepdryver,
A.F.de. : Differential fluorimetric estimation
of adrenaline and noradrenaline
in urine.
Arch.int.Pharmacodyn 115: 233 (1958)

54. Schlossmann, K., : Katecholaminbestimmung im menschlichen Harn während und nach Gabe von α -Methyldopa (Presinol).
K.D. Bock,
G. Kroneberg
Klin. Wschr. 42: 440 (1964)
55. Schümann, H.J. : Die biochemische Diagnose des Phäochromocytoms.
Dtsch. med. Wschr. 86: 2016 (1961)
56. Serrano, P.A., : Adrenaline, noradrenaline and dopamin excretion in patients with essential hypertension.
G. Figueroa,
M. Torrez Z.,
Ramírez d. Angel
Amer. J. Cardiol. 13: 484 (1964)
57. Takagi, H., : Relationships among intravascular volume, total body sodium, arterial pressure and vasomotor tone.
H.P. Dustan,
H. Page
Circulation Res. 9: 1233 (1961)
58. Weil-Malherbe, H. : The chemical estimation of adrenaline like substances.
A.D. Bone
Biochem. J. 51: 311 (1952)
59. Yoshinaga, T., : Is Angiotensin excreted in Urine?
M. Itoh, T. Sato,
J. Wada, M. Aida
Tohoku J. exp. Med. 77: 273 (1962)
60. Zeisel, H., : Die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin im Harn des Kindes.
H.J. Kuschke
Klin. Wschr. 37: 1168 (1959)
61. Zipp, H., : Blutdruck und Serumelektrolyte während saluretischer Behandlung der Hypertonie.
B. Breitenbach,
P. Baum, K. Solth
Dtsch. med. Wschr. 87: 1745 (1962)

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Bettge für die freundliche Überlassung des Themas und für manche Anregungen bei der Planung und Durchführung der Arbeit zu danken.

Weiterhin bin ic. zu Dank verpflichtet Herrn Dr. med. Bonatz für seine organisatorische Unterstützung und den Damen des Labors der Med. Poliklinik, besonders Frl. Mootz und Frl. Bräutigam, für ihre technische Assistenz.

Lebenslauf

Am 5. Februar 1938 wurde ich als Sohn des Reg.Oberbauinspektors Heinrich Müller und seiner Ehefrau Elfriede, geb. Giebeler, in Dillenburg geboren und dort evangelisch getauft.

Da mein Vater versetzt wurde, lebte ich mit noch zwei Geschwistern vorübergehend in Neustettin/Pommern, in Gardelegen/Altmark, nach der Flucht aus der Ostzone 1947 in Dreistiefenbach/Kr. Siegen und seit 1949 wieder in Dillenburg.

Meine Volksschul Ausbildung erhielt ich in Gardelegen und Dreistiefenbach. Von 1949 bis zur Reifeprüfung 1958 besuchte ich das Gymnasium in Dillenburg.

Ich wollte ursprünglich Pharmazie studieren und begann mit dem Praktikum in einer Apotheke, beendete dieses aber nach einigen Monaten mit dem Wunsch, Medizin zu studieren. Zunächst wurde ich jedoch zur Ableistung meiner Wehrpflicht ab Oktober 1958 für ein Jahr zur Bundeswehr eingezogen.

Im Sommersemester 1960 begann ich mit dem Medizinstudium an der Justus Liebig-Universität in Gießen. Ich studierte dort elf Semester und bestand am 14. Februar 1966 die ärztliche Prüfung. Zur Zeit bin ich als Med.Assistent an der Med.Poliklinik in Gießen tätig.

FOTO-DRUCK

H. Gahmig · Graph. Anstalt · 63 Gießen · Klinikstraße 21 · Telefon 78546